Análisis CEDIA® Anfetaminas/Éxtasis



IVD **Para uso diagnóstico in vitro**

REF 10016417 (3 x 17 mL Indiko Kit)
100104 (Kit de 3 x 17 mL)
100103 (Kit de 65 mL)
100040 (Kit de 495 mL)

Indicaciones

El análisis CEDIA® Anfetaminas/Éxtasis es un dispositivo médico de diagnóstico in vitro concebido para el análisis cualitativo y semicuantitativo de anfetaminas y éxtasis en orina humana.

El análisis sólo ofrece un resultado analítico preliminar. Para obtener un resultado analítico confirmado debe emplearse un método químico alternativo más específico. El método de confirmación recomendado es la técnica combinada de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC/MS).[1] Al valorar resultados analíticos referentes a drogas, y sobre todo cuando se trata de resultados positivos preliminares, deben aplicarse consideraciones clínicas y el criterio profesional.

Resumen y explicación del análisis

Las anfetaminas, los derivados anfetamínicos y el éxtasis se clasifican como aminas simpaticomiméticas con actividad estimulante del SNC.[2-4] Producen adicción psicológica y fisiológica, y sus efectos incluyen excitación, vigilia, euforia, disminución del apetito y reducción de la sensación de fatiga.[3,4] Con dosis bajas, los efectos secundarios incluyen irritabilidad, ansiedad, insomnio, visión borrosa, aumento de la tensión arterial y palpitaciones cardíacas.[3,4] Los consumidores crónicos de dosis altas pueden presentar psicosis indistinguible de la esquizofrenia aguda.[3,4]

Las anfetaminas se absorben con rapidez del tubo digestivo y se distribuyen ampliamente por todo el cuerpo.[2,4] Alrededor del 70% de cada dosis se elimina por la orina durante las 24 horas posteriores a la administración; según sea el pH urinario, cerca del 30% de cada dosis se excreta en su estado original inalterado, y el resto, en forma de metabolitos. Alrededor del 62% de cada dosis de metanfetamina se elimina por la orina durante las 24 horas posteriores a la administración; cerca del 43% de cada dosis se excreta en su estado original inalterado, y el resto, en forma de metabolitos, que incluyen la anfetamina.[2,4-6] Las anfetaminas pueden seguir detectándose en la orina hasta 3 ó 4 días después de la administración.[5] Se sabe que la MDMA (3,4-metilenedioximetanfetamina) se metaboliza por N-desmetilación a metilenedioxianfetamina (MDA). No se ha estudiado el metabolismo humano de la MDA; en los casos de muerte se han registrado concentraciones en orina de hasta 160 mg/l, lo que indica la excreción de grandes cantidades de droga en su estado original inalterado.[6]

El análisis CEDIA Anfetaminas/Éxtasis emplea la tecnología del ADN recombinante (patente estadounidense n.º 4708929) para producir un sistema único y homogéneo de enzimoinmunoanálisis.[7] Este análisis se basa en la enzima bacteriana β-galactosidasa, que se ha preparado genéticamente dividiéndola en dos fragmentos inactivos. Estos fragmentos se vuelven a asociar espontáneamente para formar una enzima totalmente activa que, en el formato del análisis, descompone un sustrato y genera un cambio de color que puede medirse mediante espectrofotometría.

En el análisis, la droga de la muestra compite con la droga conjugada con un fragmento inactivo de β-galactosidasa por el lugar de unión del anticuerpo. Si la muestra contiene droga, ésta se fija al anticuerpo y deja libres los fragmentos enzimáticos inactivos, que forman enzimas activas. Si la muestra no contiene droga, el anticuerpo se fija a la droga conjugada con el fragmento inactivo e inhibe la recombinación de los fragmentos de β-galactosidasa inactivos, impidiendo la formación de una enzima activa. La cantidad de enzima activa formada y el cambio de absorbancia resultante son proporcionales a la cantidad de droga que contenga la muestra.

Reactivos

1 **Amortiguador de reconstitución de AE:** contiene piperazina-N, N-bis (ácido 2-etanosulfónico), sales amortiguadoras, estabilizador yconservante. 4,5 mg/L de anticuerpos monoclonales anti-MDMA.

1a **Reactivo de AE:** contiene0,156 g/L de aceptor enzimático, 7,081 mg/L de anticuerpos monoclonales anti-d-anfetamina y 7,081 mg/L de anticuerpos monoclonales de ratón reactivos a la d-metanfetamina, sales amortiguadoras, detergente y conservante.

2 **Amortiguador de reconstitución de DE:** contiene amortiguador de piperazina-N, N-bis (ácido 2-etanosulfónico), sales amortiguadoras y conservante.

2a **Reactivo de DE:** contiene 7,12 µg/L de donante enzimático conjugado con d-anfetamina, 11,3 µg/L de donante enzimático conjugado con d-metanfetamina, 6,0 µg/L de donante enzimático conjugado con MDMA, 1,67 g/L de rojo de clorofenol-β-D-galactopiranósido, estabilizador y conservante.

Material adicional: etiquetas de código de barras alternativas (números de catálogo 100104 y 100103 solamente. Consulte el modo de empleo en la hoja de aplicaciones específica del analizador.) Frasco de analizador vacío para trasvasar las soluciones de AE y DE (número de catálogo 100103). Frasco de analizador vacío para trasvasar las soluciones de DE (número de catálogo 100040 solamente).

Material adicional requerido (se vende por separado):

calibrador CEDIA negativo
calibrador CEDIA multidrogas con cutoffs primarios (1.000 ng/mL)
calibrador CEDIA multidrogas con cutoffs secundarios (500 ng/mL)
calibrador CEDIA multidrogas intermedio
calibrador CEDIA multidrogas alto
conjunto CEDIA de controles multidrogas (para cutoff de 1.000 ng/mL)
conjunto CEDIA de controles específicos (para cutoff de 500 ng/mL)

⚠ Precauciones y advertencias

Los reactivos contienen azida sódica. Evite el contacto con la piel y las mucosas. En caso de contacto, lave las áreas afectadas con abundante agua. En caso de contacto con los ojos o de ingestión, consulte inmediatamente con un médico. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las cañerías y formar azidas metálicas que pueden ser explosivas. Al desechar dichos reactivos debe enjuagarse siempre con abundante agua para evitar la acumulación de azidas. Limpie las superficies metálicas expuestas con hidróxido sódico al 10%.

Preparación y almacenamiento de los reactivos

A continuación se describe la preparación de las soluciones para los analizadores Hitachi. Si se emplean otros analizadores, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador. Extraiga el kit del almacenamiento refrigerado inmediatamente antes de preparar las soluciones.

Prepare las soluciones en el orden siguiente para reducir el riesgo de una posible contaminación.

Solución de donante enzimático R2: conecte el frasco 2a (reactivo de DE) al frasco 2 (amortiguador de reconstitución de DE) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle los líquidos mediante una suave inversión y asegúrese de que todo el material liofilizado del frasco 2a pasa al frasco 2. Evite la formación de espuma. Separe el frasco 2a y el adaptador del frasco 2 y deséchelos. Tape el frasco 2 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente (entre 15 y 25°C). Mezcle de nuevo. Anote la fecha de la reconstitución en la etiqueta del frasco.
Solución de aceptor enzimático R1: conecte el frasco 1a (reactivo de AE) al frasco 1 (amortiguador de reconstitución de AE) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle los líquidos mediante una suave inversión y asegúrese de que todo el material liofilizado del frasco1a pasa al frasco 1. Evite la formación de espuma. Separe el frasco 1a y el adaptador del frasco 1 y deséchelos. Tape el frasco 1 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente (entre 15 y 25°C). Mezcle de nuevo. Anote la fecha de la reconstitución en la etiqueta del frasco.

Número de catálogo 100103-analizador Hitachi 717, 911, 912 ó 914: trasvase los reactivos reconstituidos a los frascos de 100 mL vacíos R1 y R2 correspondientes suministrados con el kit. **Analizador Hitachi 917 y sistema Modular Analytics P:** utilice los reactivos reconstituidos sin trasvasar los frascos. Deseche los frascos de 100 mL vacíos.
Número de catálogo 100040-analizador Hitachi 747 y sistema Modular Analytics D: utilice el embudo suministrado para transferir parte de la solución R2 al frasco vacío de solución R2 con la etiqueta correspondiente.

NOTA 1: los componentes suministrados en este kit están concebidos para utilizarse como una unidad integral. No mezcle componentes de lotes diferentes.
NOTA 2: para evitar la contaminación cruzada de los reactivos, no intercambie los tapones de los frascos de reactivo. La solución R2 debe presentar un color amarillo naranja. Un color rojo oscuro o rojo púrpura indica que el reactivo está contaminado y debe desecharse.
NOTA 3: antes de realizar el análisis, las soluciones R1 y R2 deben estar a la temperatura de almacenamiento del compartimiento de reactivos del analizador. Para obtener más información, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.
NOTA 4: para garantizar la estabilidad del reactivo de AE reconstituido, evite la exposición continuada y prolongada a luz brillante.

Almacene los reactivos a entre 2 y 8°C. **NO LOS CONGELE.** Para determinar la estabilidad de los componentes sin abrir, consulte la fecha de caducidad en las etiquetas de la caja o del frasco.

Solución R1: 45 días refrigerada en el analizador o a entre 2 y 8°C.
Solución R2: 45 días refrigerada en el analizador o a entre 2 y 8°C.

Recogida y manipulación de muestras

Obtenga muestras de orina en recipientes limpios de cristal o plástico. Las muestras muy turbias deben centrifugarse antes del análisis. Trate la orina humana como material potencialmente infeccioso. Si se sospecha que la muestra puede estar adulterada, obtenga otra muestra para el análisis. La adulteración de las muestras de orina puede afectar a los resultados de la prueba.

Las pautas indicadas en *The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines; Notice* recomiendan que las muestras que no se analicen en los 7 días posteriores a su llegada al laboratorio se conserven en unidades de refrigeración seguras.[8]

Procedimiento del análisis

Para efectuar este análisis pueden utilizarse analizadores químicos capaces de mantener una temperatura constante, pipetear muestras, mezclar reactivos, medir índices enzimáticos y cronometrar la reacción de manera precisa. Microgenics, parte de Thermo Fisher Scientific puede suministrar hojas de aplicación con los parámetros específicos de los instrumentos.

Se suministran etiquetas de códigos de barras adicionales para la determinación semicuantitativa solamente con los kits de 17 mL y 65 mL. Para emplearlas, pegue la etiqueta correcta a cada frasco.

Control de calidad y calibración[9]

Análisis cualitativo

Para el **análisis cualitativo** de muestras, utilice el calibrador CEDIA multidrogas con cutoffs primarios o secundarios (según el cutoff seleccionado) para analizar los resultados. Consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

Análisis semicuantitativo

Protocolo de cutoff de 500 ng/mL: para el **análisis semicuantitativo** de muestras, utilice el calibrador multidrogas, con cutoffs secundarios y cutoffs primarios, el calibrador negativo y el calibrador multidrogas intermedio.

Protocolo de cutoff de 1.000 ng/mL: para el **análisis semicuantitativo** de muestras, utilice el calibrador multidrogas con cutoffs primarios, el calibrador negativo y los calibradores multidrogas intermedio y alto.

Las prácticas correctas de laboratorio recomiendan analizar los controles cada día que se analicen las muestras y cada vez que se realice una calibración. Se recomienda efectuar dos niveles de controles; uno un 25% por encima del cutoff, y otro un 25% por debajo del cutoff. Vuelva a calibrar el análisis si se cambian los reactivos o si los resultados de los controles están fuera de los límites fijados. Base la evaluación del control de calidad en los valores obtenidos con los controles, que deben estar dentro de los límites especificados. Si se detectan tendencias o cambios repentinos de los valores, revise todos los parámetros operativos. Para obtener más ayuda, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica del cliente. Todos los requisitos de control de calidad deben realizarse de acuerdo con las normas o los requisitos de acreditación locales, estatales o federales.

Resultados y valores esperados

Resultados cualitativos

El calibrador multidrogas con cutoffs primarios o secundarios (que contienen 1.000 ng/mL y 500 ng/mL de d-metanfetamina, respectivamente), se utiliza como referencia para distinguir entre muestras positivas y negativas. Las muestras que produzcan valores de respuesta iguales o superiores al valor de respuesta del calibrador se consideran positivas. Las muestras que produzcan valores de respuesta inferiores al valor de respuesta del calibrador se consideran negativas. Para obtener más información, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

Resultados semicuantitativos

Protocolo de cutoff de 500 ng/mL: el calibrador multidrogas con cutoffs secundarios, utilizado junto con el calibrador negativo, el calibrador multidrogas con cutoffs primarios y el calibrador multidrogas intermedio, puede utilizarse para estimar la concentración relativa de anfetaminas. Para obtener más información, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

Protocolo de cutoff de 1.000 ng/mL: el calibrador multidrogas con cutoffs primarios, utilizado junto con el calibrador negativo y los calibradores multidrogas intermedio y alto, puede utilizarse para estimar la concentración relativa de anfetaminas. Para obtener más información, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

En el cálculo de la concentración deben tenerse en cuenta factores que puedan influir en el resultado de los análisis de orina, como pueden ser la ingestión de líquidos y otros factores biológicos.

Limitaciones

1. Un resultado positivo en la prueba indica la presencia de anfetaminas; no indica ni mide la intoxicación.
2. Existe la posibilidad de que otras sustancias o factores no mencionados interfieran en la prueba y causen resultados falsos (p. ej., errores técnicos o de procedimiento).

Características específicas de rendimiento

A continuación se muestran los resultados de rendimiento típicos obtenidos con el analizador Hitachi 717.[10] Los resultados obtenidos en su laboratorio pueden ser distintos a estos datos.

Precisión

Los estudios de la precisión medida realizados con reactivos, calibradores y controles envasados arrojaron los siguientes resultados con un analizador Hitachi 717 siguiendo las pautas modificadas de la NCCLS para la realización de repeticiones de experimentos.

Cualitativo (mA/min):

	Precisión en la Serie				**Precisión Total**			
ng/mL	500*	750**	1.000**	1.250**	500*	750**	1.000**	1.250**
n	120	120	120	120	120	120	120	120
x̄	353,0	336,1	360,0	385,9	353,0	336,1	360,0	385,9
SD	3,0	4,2	4,1	5,2	5,7	6,5	7,0	7,6
%CV	0,9	1,3	1,1	1,4	1,6	1,9	2,0	2,0

* Determinada usando el protocolo de cutoff de 500 ng/mL.
** Determinada usando el protocolo de cutoff de 1.000 ng/mL.

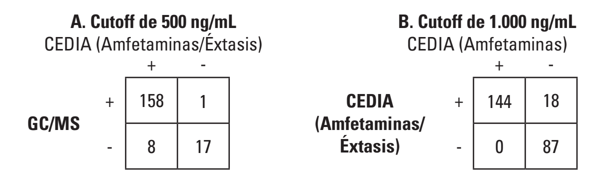
Semicuantitativo (ng/mL):

	Precisión en la Serie				**Precisión Total**			
ng/mL	500*	750**	1.000**	1.250**	500*	750**	1.000**	1.250**
n	120	120	120	120	120	120	120	120
x̄	496,5	808,5	1.057,6	1.403,6	496,5	808,6	1.057,6	1.403,6
SD	27,0	29,9	51,2	68,7	38,6	52,6	77,3	115,1
%CV	5,4	3,7	4,8	4,9	7,8	6,5	7,3	8,2

* Determinada usando el protocolo de cutoff de 500 ng/mL.
** Determinada usando el protocolo de cutoff de 1.000 ng/mL.

Exactitud

Las muestras de orina se analizaron con el análisis CEDIA Anfetaminas/Éxtasis en el analizador Hitachi 717 utilizando GC/MS y el análisis CEDIA DAU Anfetaminas de tipo comercial como referencia. Los resultados se detallan a continuación:



A. Cutoff de 500 ng/mL
CEDIA (Amfetaminas/Éxtasis)

		+	-
GC/MS	+	158	1
	-	8	17

B. Cutoff de 1.000 ng/mL
CEDIA (Amfetaminas)

		+	-
CEDIA (Amfetaminas/Éxtasis)	+	144	18
	-	0	87

	GC/MS (ng/mL)*		**CEDIA Análisis (ng/mL)***			**% Agreement**
Ranges	Min	Max	Positive	Negative	n	%
0	0	0	0	5	5	100%
0 to -50% CO*	40	207	1	5	6	83%
-50% CO to -25% CO	277	351	3	2	5	40%
-25% CO to CO	392	495	4	5	9	56%
Assay CO	500	500	2	0	2	100%
CO to +25% CO	502	575	7	1	8	88%
+25% CO to +50% CO	635	693	3	0	3	100%
> 50% CO	> 750	-	146	0	146	100%

* CO=Cutoff (Cutoff de 500 ng/mL)

Especificidad
Al analizar los siguientes compuestos con el análisis CEDIA Anfetaminas/Éxtasis (protocolo de cutoff de 1.000 ng/mL), se obtuvieron los siguientes porcentajes de reactividad cruzada:

Compuesto	Concentractión Analizada (ng/mL)	% de Reactividad Cruzada
d-anfetamina	1.000	104
l-anfetamina	40.000	1,0
d,l-anfetamina	1.250	88
d,l-metanfetamina	1.000	77
d-metanfetamina	1.000	100
l-metanfetamina	8.000	18
3,4-Metilenedioxi-anfetamina (MDA)	1.000	116
3,4-Metilenedioxi-metanfetamina (MDMA)	500	196
3,4-Metilenedioxi-etilanfetamina (MDEA)	300	172
N-metilbenzodioxa-zolibutanamina (MBDB)	900	121
Benzodioxazolibutanamina (BDB)	1.000	76
Fentermina	25.000	3,3
d,l-fenilpropanolamina	500.000	0,3
d-pseudoefedrina	160.000	0,9
p-efedrina	250.000	0,5
p-metoxianfetamina (PMA)	2.000	24
p-metoximetanfetamina (PMMA)	500	100

Se analizaron compuestos no relacionados estructuralmente mediante el análisis CEDIA Anfetaminas/Éxtasis (protocolo de cutoff de 500 ng/mL), y se obtuvieron respuestas negativas cuando se probaron las concentraciones indicadas a continuación.

Compuesto	ng/mL	Compuesto	ng/mL
Acetaminofeno	1.000.000	Fenobarbital	1.000.000
Ácido acetilsalicilico	1.000.000	Fluoxetina	500.000
Ácido salicilúrico	1.000.000	Ibuprofeno	1.000.000
Amoxicillina	1.000.000	Levotiroxina	100.000
Benzoilecgonina	1.000.000	Metadona	1.000.000
Captopril	1.000.000	Morfina	1.000.000
Cimetidina	500.000	Nifedipina	50.000
Clordiazepóxido	250.000	d-propoxifeno	1.000.000
Codeína	1.000.000	Ranitidina	250.000
Diazepam	100.000	Secobarbital	1.000.000
Digoxina	1.000.000	11-nor-Δ^9-THC-COOH	10.000
Enalapril	1.000.000	Verapamil	1.000.000
Fenciclidina	1.000.000	Tolmetina	500.000

No se observaron interferencias de las siguientes sustancias añadidas a las concentraciones endógenas normales encontradas en orina cuando se analizaron con el análisis CEDIA Anfetaminas/Éxtasis:

Sustancia	Concentración	Sustancia	Concentración
Acetona	$\leq$ 1,0 g/dL	Galactosa	$\leq$ 10 mg/dL
Ácido ascórbico	$\leq$ 1,5 g/dL	γ-globulina	$\leq$ 0,5 g/dL
Ácido oxálico	$\leq$ 0,1 g/dL	Glucosa	$\leq$ 1,5 g/dL
Albúmina de suero humano	$\leq$ 0,5 g/dL	Hemoglobina	$\leq$ 0,3 g/dL
Cloruro sódico	$\leq$ 6,0 g/dL	Riboflavina	$\leq$ 7,5 mg/dL
Creatinina	$\leq$ 0,5 g/dL	Urea	$\leq$ 2,0 g/dL
Etanol	$\leq$ 1,0 g/dL		

Sensibilidad
El límite de detección (LDD) de la aplicación cualitativa fue 35 ng/mL y 75 ng/mL con los protocolos de cutoff de 500 ng/mL y 1.000 ng/mL, respectivamente.

El límite de detección (LDD) de la aplicación semicuantitativa fue 41 ng/mL y 99 ng/mL con los protocolos de cutoff de 500 ng/mL y 1.000 ng/mL, respectivamente.

Bibliografía

1. Hawks RL. Analytical methodology. In: Hawks, RL, Chiang, C N,eds. Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph 1986:73:30-41.
2. Physicians' Desk Reference. 47th ed. Oradell, NJ: Medical Economics Books; 1993.
3. Julien RM. A Primer of Drug Action. 6th ed. New York, NY: WH Freeman & Co; 1992.
4. Miller NS, Gold MS. Amphetamine and its derivatives. In: Giannini AJ, Slaby AE, eds. Drugs of Abuse. Oradell, NJ: Medical Economics Books; 1989.
5. Busto U, Bendayan R, Sellers EM. Clinical pharmacokinetics of nonopiate abused drugs. 1989,16: 1-26.6.Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals in Man. 4th ed. Foster City, Calif.: Chemical Toxicolog Instititute; 1995.
7. Henderson DR, Friedman SB, Harris JD. et al. CEDIA®, a new homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 1986; 32:1637-1641.
8. Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program: Revised Mandatory Guidelines. Federal Register. 1994;110 (June 9): 11983 (Las pautas revisadas se esperan para el año 2002).
9. Datos sobre trazabilidad archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.
10. Datos archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.



Microgenics Corporation
46360 Fremont Blvd.
Fremont, CA 94538-6406 EE.UU.
Servicio al cliente y de asistencia técnica en EE.UU:
1-800-232-3342



EC REP

Thermo Fisher Scientific Oy
Ratastie 2, P.O. Box 100
01621 Vantaa, Finland
Tel: +358-9-329100
Fax: +358-9-32910300


Para actualizaciones de folletos, visite:
www.thermoscientific.com/diagnostics

Otros países:
Contácte a su representante local de Thermo Fisher Scientific.

10006576-3_ES
2012 07

